

ダリア球根抽出物の食後血糖上昇抑制作用

奥 和之*, 田中 彩乃, 小山かおる, 川西 美穂, 坂 江理香, 藤原 政嘉

大阪青山大学健康科学部健康栄養学科

Improvement of sugar tolerance by a dahlia tuber extract in rats.

Kazuyuki OKU, Ayano TANAKA, Kaoru KOYAMA, Miho KAWANISHI,
Erika SAKA and Masayoshi FUJIWARA

Department of Health and Nutrition, Faculty of Health Science, Osaka Aoyama University

Summary Dahlia tuber extract are a good source of inulin, a soluble dietary fiber, comparable to other inulin-rich foods such as Jerusalem artichoke, chicory and edible burdock. In the present study, the effect of a dahlia tuber extract on sugar tolerance was examined. The dahlia tuber extract showed weak inhibition against α -glucosidases, inhibiting the activity of maltase in hog intestinal mucosa with an IC_{50} of 73mM vs 1.7 mM for acarbose. Kinetic analysis revealed that the dahlia tuber extract behaved like a mixed non-competitive type inhibitor with a K_i value of 108mM. Oral sugar tolerance tests in healthy rats showed that administration of the dahlia tuber extract along with maltodextrin suppressed the postprandial increase in blood glucose. The ameliorating effect of the dahlia tuber extract on sugar intolerance in the normal rats was considered to be mainly due to its α -glucosidases inhibitory activity.

Keywords: dahlia tuber extract, sugar tolerance, α -glucosidases inhibitory activity

緒 言

ダリア (Dahlia, 学名 *Dahlia hybrid*) は、キク科のダリア属の植物でメキシコ原産であり、長い間をかけて品種改良が行われて、多種多様な花色、花容の品種が作り出されている。通常、ダリア球根は芽のついた状態の 10g 以下のものが種根として取引されているが、30g 以上のものや芽のついていないものは廃棄されている。ダリア球根には、水溶性食物繊維のイヌリンが含まれていることが報告されており、これら廃棄される球根の有効利用が期待されている。

イヌリンは、チコリー、きくいも、ごぼうなどの球根にも多く含まれている分子量 5000 ~ 6300 の多糖類であり、フルクトースの β (1 → 2) 結合が 20 ~ 40 個直鎖状に重合したものの還元末端にグルコースが α (1 → 2) 結合した構造を有している¹⁾。山本らは、ダ

リア球根からのイヌリン精製を行い、ダリア球根には約 45% のイヌリン (固形物換算) が含まれていることを報告している^{2), 3)}。グルコースのみから成るデンプンとは異なり、イヌリンは人間の体内では消化・吸収されない水溶性食物繊維であり、腸内ではプレバイオティクスとして作用する。イヌリンの生理機能として、食後血糖値上昇抑制作用、腸内細菌活性化作用、免疫活性増強作用、抗がん作用など多くの報告がされており^{4) - 7)}、ダリア球根はイヌリン供給源として利用が期待される。一方、多くの球根には種々のポリフェノールが単糖や多糖が β - グルコシド結合した配糖体として存在しており、これらのポリフェノールが消化酵素に対する阻害作用を有することが報告されている⁸⁾。

本研究では、ダリア球根抽出物の二糖類水解酵素に対する作用とラットを用いた糖負荷試験による食後血糖の上昇抑制作用を検討した。

*E-mail: k-oku@osaka-aoyama.ac.jp
〒562-8580 箕面市新稲2-11-1

方 法

1. 試料

ダリア球根は、兵庫県川西市黒川ダリア園から提供された平成 23 年 12 月に採取されたものを使用した。ダリア球根の皮を除いた後、裁断し凍結真空乾燥した。ダリア球根抽出物の調製は、ダリア球根粉末 1g に脱イオン水 10ml 添加し、80℃で 2 時間加熱抽出した。

2. ダリア球根抽出物のブタ小腸粘膜二糖類水解酵素活性に及ぼす影響

小腸粘膜のマルターゼおよびスクラーゼ活性は、ブタ小腸粘膜凍結乾燥物 20 mg に生理食塩水 3 ml を加え、テフロンホモジナイザーで摩砕して得られたホモジネートを粗酵素液として使用した。各酵素に対するダリア球根抽出物の阻害活性測定は以下のようにして行った⁹⁾。

0.1M マレイン酸緩衝液 (pH6.0) に溶解した 1% マルトースまたはスクロース 1ml にダリア球根抽出液 0.1ml、ブタ小腸粘膜粗酵素液 0.1ml を加え、37℃で 15 分間反応した。沸騰水浴中で 10 分間加熱して反応を停止した。反応溶液の遠心分離後、上清中のグルコース量をグルコースオキシダーゼ法¹⁰⁾にて測定した。また、マルトース濃度 0.278 m M から 27.8 m M、ダリア球根抽出物濃度 0.1mg から 10mg / 0.1ml に変化した場合での酵素反応速度を調べ、Linweaver - Burk プロットによる阻害様式の決定と Dixon プロットによる K_i 値の算出を行った。

3. ラットを用いた耐糖能試験 (マルトデキストリン負荷試験)

実験動物は 7 週齢の Wistar /SLC 系雄ラット (清水実験動物㈱) を使用した。被験物質は、マルトデキストリンとしてパインデックス # 100 (松谷化学工業㈱製) を使用した。また対照として難消化性デキストリン (商品名: ファイバーソル II, 松谷化学工業㈱製, 以下 FS-II) を使用した。マルトデキストリン (以下 MD) は、25% 濃度となるように脱イオン水で調製した。ダリア球根抽出液は全糖量換算で 5% 濃度になるように脱イオン水で調製し、80℃で 2 時間抽出し遠心分離した。ラットは糖負荷試験前日の夕方より絶食とし、被験試料液を胃ゾンデを用いて胃内投与した。投与量は、被験物質の MD 溶液は体重 kg あたり MD が 1.5g とした。ダリア球根抽出液 (以下 Dh) のみ投与は 0.3g/kg-BW とし、MD とダリア球根抽出物 Dh の混合投与では、MD 1.5g/kg-BW に対し Dh 添加量を MD の 1/5 (Dh 0.3g/

kg-BW), 1/50 (Dh 0.03g/kg-BW), 1/500 (Dh 0.003g/kg-BW) に設定した。また対照の FS-II は MD 溶液 1.5g/kg-BW に対し FS-II 0.3g/kg-BW とした。採血は、投与前、投与後 15, 30, 60, 90, 120 分の計 6 回とし、いずれも無麻酔下で尾静脈より採血した。採血した血液を 5000rpm, 30 分間の遠心分離により血清を採り、分析まで -50℃にて凍結保存した。得られた血清中のグルコースを市販グルコース測定キット グルコース C II - テストワコー (和光純薬工業㈱製) により測定した。血糖曲線下面積 (AUC) は、被験物質投与前から投与後 30 分と 120 分の incremental AUC を算出した¹¹⁾。

本動物実験は、大阪青山大学動物実験委員会承認番号 11-7 により行った。

4. 統計処理

データは平均値±標準偏差で表示した。各群間の有る t 検定, 不等分散の場合は Cochran-Cox 法で検定した。また、Dh 濃度の違いによる回帰直線の傾きの違いについて一元配置型回帰分析により検定した。危険率 5% 未満で有意となるものを有意差ありと判定した。

結 果

1. ダリア球根抽出物のブタ小腸粘膜二糖類水解酵素活性に及ぼす影響

ブタ小腸粘膜のマルターゼおよびスクラーゼ活性に及ぼすダリア球根抽出物の影響を表 1 に示した。マルターゼ活性は、ダリア球根抽出物無添加の 3.31u/ml に対し、ダリア球根抽出物 10mg 添加で 2.23u/ml と 67% に低下した。一方、スクラーゼに対する阻害作用は弱かった。

マルトース濃度 0.278 m M から 27.8 m M、ダリア球根抽出物添加量を 0.1mg から 10mg に変化した場合での酵素反応速度を調べたところ、マルターゼ活性を 50% 阻害するダリア球根抽出物濃度 (IC_{50}) は 15.8mg/1.2ml- 反応液 (グルコース換算では 73 m M) となった。各マルトース濃度およびマルターゼ活性の逆数をプロット (Linweaver-Burk プロット, 図 1) したところ、ダリア球根抽出物添加により K_m 値は 2.72 ± 0.02 mM と変化しなかったが、 V_{max} はダリア球根抽出物添加量に応じて低下し、ダリア球根抽出物のマルターゼ活性の阻害形式は非拮抗阻害型であることがわかった。また Dixon プロットから求めたダリア球根抽出物の K_i は 23.26mg (グルコース換算 108 m M) となった (図 2)。

表 1. ダリア球根抽出物 (Dh) のブタ小腸二糖類水解酵素阻害活性

マルターゼ	マルターゼ活性 * (u/ml - 酵素)	%
Dh 無添加	3.31 ± 0.34a	100
Dh 0.1 mg 添加	3.09 ± 0.14 a	93
Dh 1.0 mg 添加	2.77 ± 0.05 c	84
Dh 10 mg 添加	2.23 ± 0.04 c	67
スクラーゼ	スクラーゼ活性 ** (u/ml - 酵素)	%
Dh 無添加	0.72 ± 0.04a	100
Dh 10 mg 添加	0.62 ± 0.03 a	93

* 1u: 1 分間に 2 μ mol のグルコースを遊離する酵素量

** 1u: 1 分間に 1 μ mol のグルコースを遊離する酵素量

a: Dh 無添加に対して p<0.05 で有意差あり

c: Dh 無添加に対して p<0.001 で有意差あり

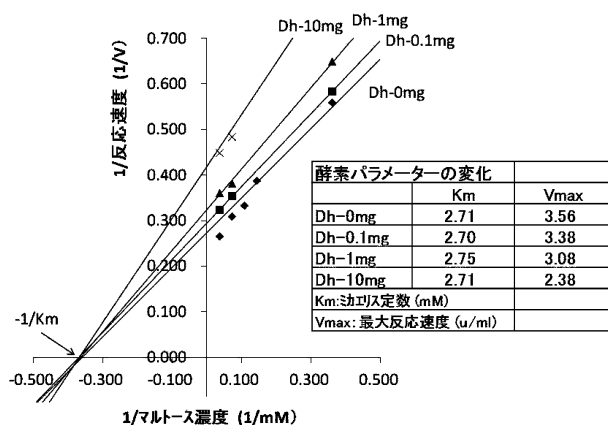


図 1. ダリア球根抽出物のマルターゼ活性阻害作用
(Lineweaver - Burk プロットによる阻害様式の決定)
各回帰直線の傾きは p<0.05 で有意差あり
(一元配置型回帰分析より)

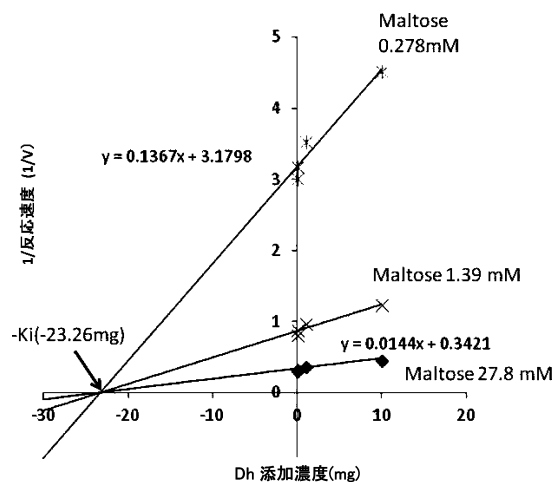


図 2. ダリア球根抽出物のマルターゼ活性阻害作用
(Dixon プロットによる阻害係数の算出)
各回帰直線の傾きは p<0.05 で有意差あり
(一元配置型回帰分析より)

2. ラットを用いた耐糖能試験

マルトデキストリン負荷後の血糖値変化を図 3 に示した。マルトデキストリンのみ投与 (MD 1.5g/kg-BW) では、投与後 30 から 60 分をピークに血糖上昇がみられ、その後低下した。一方、ダリア球根抽出のみ投与 (Dh 0.3g/kg-BW) では血糖上昇は見られなかった。マルトデキストリンにダリア球根抽出物を併用した系では、Dh 添加量に依存して血糖上昇が低下した。またポジティブコントロールとして用いた難消化性デキストリンでは、緩やかな血糖上昇パターンとなり、その作用はダリア球根抽出物に比べが弱いことがわかった。

マルトデキストリン投与 120 分までの血糖曲線下面積 (AUC) を表 2 にまとめた。ダリア球根抽出物添加量に応じて AUC が低下し、その作用は難消化性デキストリンに比べると強く Dh 添加量のほぼ 100 分の 1 程度であった。さらにダリア球根抽出物添加群では血糖上昇の立ち上がりである 0 から 30 分の AUC も低かった。

考 察

ダリア球根には水溶性食物繊維イヌリンが含まれていることから、廃棄球根の有効利用が望まれている。イヌリンの生理機能として、食後の血糖値上昇抑制作用や主にフラクトオリゴ糖による腸内細菌活性化作用、免疫活性増強作用、食物繊維効果による抗がん作用など多くの機能が報告がされている 4) -7)。一方、ダリア球根からのイヌリン抽出法についても検討されているが、ダリア球根自体での生理機能や有効性については検討されていない。

本研究では、イヌリンの生理機能のうち食後血糖上昇抑制作用に注目し、ダリア球根抽出物のブタ小腸粘膜二糖類水解酵素阻害活性とラットを用いた耐糖能試験を行った。

ブタ小腸粘膜二糖類水解酵素ではマルターゼについて阻害活性が認められたが、イヌリンの構成最少単位で

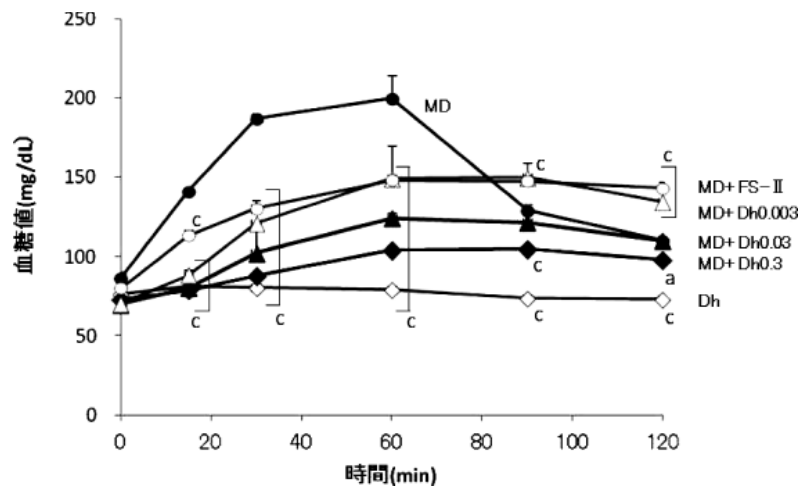


図 3. マルトデキストリン負荷後の血糖変化

● : MD 1.5g/kg-BW 負荷, △ : MD + Dh 0.003g/kg-BW 負荷, ◇ : Dh 0.3g/kg-BW 負荷
 ○ : MD + FS-II 0.3g/kg-BW 負荷, ◆ : MD + Dh 0.3g/kg-BW 負荷, ▲ : MD + Dh 0.03g/kg-BW 負荷
 a : MD 1.5g/kg-BW 負荷に対して $p < 0.05$ で有意差あり. c : MD 1.5g/kg-BW 負荷に対して $p < 0.001$ で有意差あり.

表 2. MD 負荷後の血糖曲線下面積 (AUC)

	AUC	
	投与 0 ~ 30 分	投与 0 ~ 120 分
MD (1.5g/kg-BW)	1655 (100)	8517 (100)
Dh のみ (0.3g/kg-BW)	95 (6)	127 (2)
< MD 併用系 >		
MD+Dh 0.3g/kg-BW	174 (11)	2338 (27)
MD+Dh 0.03g/kg-BW	396 (24)	4651 (55)
MD+Dh 0.003g/kg-BW	650 (39)	7138 (84)
MD+FS-II 0.3g/kg-BW	872 (53)	6639 (78)

AUC ; $\text{mg} \cdot \text{dl}^{-1} \cdot \text{min}$, () 内は, MD (1.5g/kg-BW) 区を 100 とした場合の AUC (%) を示した。

あるスクロースを加水分解する酵素, スクララーゼに対する作用は弱かった。また, マルターゼに対する阻害作用形式は非拮抗阻害であった。一方, コーンスターチを原料に酸・湿熱処理して調製した難消化性デキストリンではマルターゼおよびスクラーゼに対して阻害活性が認められており, スクララーゼに対する作用は拮抗阻害であることが報告されている⁹⁾。一方, ダリア球根にはイヌリンの他に多くのポリフェノールが含まれており, ダリア球根粉末 1g 当たり 4.64mg (没食子酸換算, データ未発表) 含有している。そこで, マルターゼ阻害活性を糖 (グルコース) ベースではなくポリフェノール換算すると, マルターゼに対する IC_{50} (50% 阻害濃度) は $0.227 \mu\text{M}$ となり, アカルボース (1.7mM) より強い効果となることがわかった¹²⁾。鈴木らは, 植物性ポリフェノールのうちジフェニルプロパン構造を持つポリフェノール

類が強い消化酵素阻害を示し, その阻害メカニズムは酵素の活性中心以外で酵素とポリフェノールが結合し, 酵素活性を失活させる非拮抗阻害であることを報告している⁸⁾。ダリア球根抽出物のマルターゼ阻害もポリフェノールの関与が強く示唆される。

次にラットを用いたマルトオリゴ糖負荷試験によるダリア球根抽出物の耐糖能性について検討した。マルトデキストリンにダリア球根抽出物を併用した系では, Dh 添加量に依存して血糖上昇が低下し, 血糖曲線下面積 (AUC) もダリア球根抽出物添加量に応じて低下した。またその作用は難消化性デキストリンに比べると強かった。糖質の消化吸収を抑制または遅延する代表的な物質にペクチンなどの水溶性食物繊維¹³⁾ やボグリボースのような二糖類水解酵素阻害剤がある¹⁴⁾。前者はその粘性による糖質の吸収抑制が, 後者は消化

阻害が主な作用である。ダリア球根に多く含まれるイヌリンの食後血糖上昇抑制作用も疑似粘膜層の増大による消化・吸収の遅延作用によると考えられる。一方、ダリア球根抽出物添加群では血糖上昇の立ち上がりである投与 0 から 30 分の血糖値も低かった。これはマルトデキストリン投与初期におけるマルターゼ消化に対し、ダリア球根抽出物の消化酵素阻害作用が働いているためと示唆される。

以上の結果から、ダリア球根抽出物の耐糖能効果は、イヌリンによる消化・吸収の遅延作用とともに、本物質が有する α -グルコシダーゼ阻害活性によるものと考えられた。

文 献

- 1) 今堀和友, 山川民夫監修: 生化学辞典, 東京化学同人, 1984, p.129.
- 2) 山本愛二郎, 池田亜由美, 稲垣幸枝, 佐々木真弓, 仲津美希: ダリア球根からのイヌリンの調製—宝塚の名物・名産づくりに参加して—, 甲子園大学紀要 栄養学部編, 2003, 31 (A), p.9-16.
- 3) 野口聡裕, 山本愛二郎: ダリア球根からのイヌリンの調製とアトロピンを含まないことの確認, 食科工, 2006, 52, p.308-311.
- 4) Robertfroid M., Dietary fiber, inulin, and oligofructose: a review comparing their physiological effects, *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.*, 1993, 33, p.103-148.
- 5) Wada T., Sugatani J., Terada E., Ohguchi M. and Miwa M., Physico-chemical characterization and biological effects of inulin enzymatically synthesized from sucrose, *J. Agric. Food Chem.*, 2005, 53, p.1246-1253.
- 6) 寺部茜, 三嶋智之, 柘植治人: 重合度の異なるイヌリンの食物繊維としての効果, 日本食物繊維学会誌, 2005, 9, p.93-99.
- 7) Ito H., Wada T., Ohguchi M., Sugayama K., Kiriya S. and Morita T., The degree of polymerization of inulin-like fructans affects cecal mucin and immunoglobulin in rats, *J. Food Sci.*, 2008, 73, H36-H41.
- 8) 鈴木敦士, 山本幸弘, 原節子: 植物性ポリフェノールの消化酵素に対する阻害作用, 成蹊大学理工学研究報告, 2011, 48 (No.2), p.1-8.
- 9) 田代操, 加藤みずほ: コーンスターチより調製された難消化性デキストリン投与がストレプトゾトシン糖尿病ラットの耐糖能に及ぼす影響, 栄食誌, 1999, 52, p.21-29.
- 10) Miwa I., Okuda J., Maeda K. and Okuda G., Mutarotase effect on colorimetric determination of blood glucose with β -D-glucose oxidase, *Clin. Chim. Acta.*, 1972, 37, p.538-540.
- 11) Le Floch JP., Escuyer P., Baudin E., Baudon D., and Perlemuter D., Blood glucose area under the curve. Methodological aspects, *Diabetes Care.*, 1990, 13, p.172-175.
- 12) Yuasa H., Izumi M. and Hashimoto H., Thiasugars: Potential Glycosidase Inhibitors, *Current Topics in Medicinal Chemistry*, 2009, 9, p.76-86.
- 13) Sanaka M., Yamamoto T., Anjiki H. Nagasawa K. and Kuyama Y., Effect of agar and pectin on gastric emptying and post-prandial glycaemic profiles in healthy human volunteers, *Clin. Exp. Pharmacol. Physiol.*, 2007, 34, p.1151-1155.
- 14) 小高裕之, 松尾隆夫: α -グルコシダーゼ阻害剤, 日本農芸化学学会誌, 1989, 63, p.217-219.